UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1901-1902 N° 473

DES MÉTHODES
DE
RECHERCHE DES PIGMENTS ET SELS BILIAIRES
DANS LES URINES

Nouveau Procédé basé sur la Tension superficielle et la Viscosité

THÈSE
POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement en Mai 1902

PAR

G. GARÈS

Né à Lalbenque (Lot), le 22 Mars 1873

NOMS DES EXAMINATEURS : MM. TOURNEUX, ✠ A., *Président.*
MOREL, ✠ A.
SOULIÉ.
BARDIER, ✠ A. } *Assesseurs.*

TOULOUSE
IMPRIMERIE MARQUÉS & Cie, BOULEVARD DE STRASBOURG, 22

1902

Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Toulouse

TABLEAU DU PERSONNEL

Doyen	MM.	CAUBET, ✻, ✪ I.
Assesseur		FRÉBAULT, ✪ I.

PROFESSEURS

Anatomie	MM.	CHARPY, ✪ I.
Histologie normale		TOURNEUX, ✪ A.
Physiologie		ABELOUS, ✪ A.
Anatomie pathologique		TAPIE, ✪ I.
Pathologie et thérapeutique générales		HERRMANN, ✪ I.
Pathologie interne		ANDRÉ, ✻, ✪ I.
Pathologie externe		PÉNIÈRES, ✪ A.
Médecine opératoire		LABÉDA, ✪ I.
Thérapeutique		SAINT-ANGE, ✪ I.
Hygiène		GUIRAUD, ✪ I.
Clinique médicale		CAUBET, ✻, ✪ I. MOSSÉ, ✻, ✪ A.
Clinique chirurgicale		JEANNEL, ✪ I. CHALOT, ✪ A.
Clinique obstétricale		CROUZAT, ✪ A.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques		AUDRY, ✪ A.
Clinique des maladies mentales		RÉMOND, ✪ A.
Pharmacie		DUPUY, ✪ I.
Chimie et Toxicologie		FRÉBAULT, ✪ I.
Matière médicale		BRÆMER, ✪ I.
Histoire naturelle		LAMIC, ✪ I.

CHARGÉS DE COURS

Anatomie topographique	MM.	SOULIÉ.
Physique		MARIE, ✪ A.
Chimie		ALOY, ✪ A.
Histoire naturelle		SUIS, ✪ A.
Médecine légale		GUILHEM, ✪ A.
Bactériologie		MOREL, ✪ A.
Clinique des maladies des enfants		BÉZY, ✪ A.
Clinique ophthalmologique		VIEUSSE ✻.
Hydrologie		GARRIGOU, ✪ I.
Pathologie expérimentale		MAUREL, O ✻, ✪ I.
Cours élémentaire aux sages-femmes		AUDEBERT.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

Pathologie interne et Médecine légale	MM.	MOREL, ✪ A. RISPAL. FRENKEL.
Chirurgie		BAUBY. CESTAN.
Accouchements		AUDEBERT.
Anatomie et Histologie		SOULIÉ
Physiologie		BARDIER, ✪ A.
Chimie		N...
Physique		CLUZET.
Pharmacie		RIBAUT.

Secrétaire de la Faculté ..... M. CHAUDRON, ✪ I.

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.

(Délibération en date du 12 mai 1891)

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

A MON FRÈRE

Sous-Lieutenant au 34e d'Artillerie

A MES PARENTS

A MES AMIS

A MES CAMARADES D'INTERNAT EN PHARMACIE

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ

ET DES HOPITAUX

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR TOURNEUX

A MM. les Professeurs Agrégés BARDIER et SOULIÉ

A mes Amis les Docteurs BILLARD et DIEULAFÉ

Professeurs à l'École de Médecine de Clermont

A mon Ami le Lieutenant PIDAUT

Au moment de terminer par ce travail inaugural mes études médicales, je tiens à remercier tous ceux à qui je suis redevable de leçons et de conseils :

A M. le professeur Tourneux, qui m'a prodigué sa bienveillance et qui veut bien me faire l'honneur d'accepter la présidence de ma thèse, j'adresse mes plus respectueux témoignages de reconnaissance.

Les marques d'intérêt que nous accorde constamment M. le professeur Charpy nous font un agréable devoir de lui adresser nos remerciements les plus sincères.

Au souvenir de leurs précieuses leçons, nous adressons l'expression de toute notre gratitude à MM. les professeurs Caubet, Labéda, Pénières, Rémond, Brœmer, Dupuy, Marie, à MM. les professeurs agrégés Audebert, Morel, Rispal.

MM. les professeurs agrégés Bardier et Soulié, en plus de leurs excellentes leçons et de leurs conseils, nous ont accordé des marques de sympathie auxquelles nous sommes très sen-

sibles, aussi leur adressons-nous l'expression de notre sincère attachement.

Nos amis les docteurs Buy, Castaing, Dalous, Desforges-Mériel, Gilles, Sarda, Oulié, chefs de clinique à la Faculté, et Constantin, interne des hôpitaux, ont été pour nous des camarades en qui nous avons trouvé des guides précieux.

A M. le docteur Laborde, pharmacien en chef de l'Hôtel-Dieu, nous adressons notre meilleur souvenir.

Le plus profond de ma reconnaissance s'adresse à mon ami le docteur Billard, professeur à l'Ecole de médecine de Clermont, qui depuis longtemps m'a inspiré ce travail, et qui par ses recherches m'a permis de le mener à bonne fin.

Enfin, mon ami le docteur Dieulafé voudra bien agréer mes plus vifs remerciements pour tous ses excellents conseils et l'intérêt qu'il m'a porté jusqu'à la fin de mes études.

Introduction

Le but de ce travail est de passer en revue les principales méthodes de recherches des pigments et sels biliaires dans les liquides de l'organisme, spécialement dans l'urine.

On utilise à cet effet de nombreux procédés que l'on peut diviser en deux groupes principaux : d'une part, les procédés chimiques, et, de l'autre, les procédés physiques. Nous insisterons tout particulièrement sur ces derniers que des travaux récents ont fait rentrer dans le domaine de la biologie.

Grâce aux nouvelles connaissances sur les constantes physiques des solutions salines, on a pu pénétrer plus intimément dans le mécanisme de certains phénomènes physiologiques, et à l'heure actuelle les applications de ces principes sont déjà nombreuses. Nous ne pouvons ici les examiner toutes. Nous mentionnerons toutefois les progrès si rapides qui ont été accomplis dans l'étude des rapports de la concentration moléculaire des liquides organiques avec leur pouvoir osmotique.

On sait que, comme pour la capillarité, « les phé-« nomènes de tension superficielle sont engendrés « par des actions réciproques qui s'exercent entre « les molécules d'un même liquide ou entre des « molécules situées de part et d'autre de la surface « de contact, soit de deux liquides non miscibles, « soit d'un solide et d'un liquide qui n'exercent l'un « sur l'autre ni action chimique, ni action d'imbibi-« tion ou de dissolution » (Imbert).

Au sein d'un liquide en équilibre, les effets des forces moléculaires sont tels que la couche superficielle du liquide est dans un certain état de tension, tout comme si à la surface il existait une membrane élastique tendue, résistant à la rupture et capable de se reformer après qu'elle a été rompue.

Les travaux de Raoult, Van't'Hoff, Arrhenius, Hugo de Vries, Hamburger, etc., pour ne citer que les principaux, nous ont montré tous les phénomènes si intéressants qui résultent de l'influence de la tension osmotique sur la vie cellulaire. De là sont nées plusieurs méthodes qui nous permettent d'évaluer très exactement la tension osmotique d'un liquide donné. La plus communément employée est la *cryoscopie* qui n'est autre que la recherche du point de congélation.

En dehors de ces différentes applications, nous savons que la cryoscopie a en particulier fait avancer nos connaissances, au point de vue physiologique, sur le mécanisme de la sécrétion urinaire; au point de vue

pratique sur la signification de la concentration moléculaire par rapport au fonctionnement de l'appareil urinaire.

Les recherches de Claude et Balthazard dans le domaine de la physiologie pathologique, nous ont fourni de nombreuses précisions intéressantes en ce qui concerne l'influence de l'état morbide sur la concentration moléculaire du liquide urinaire. Aussi, la cryoscopie constitue-t-elle désormais une nouvelle méthode d'examen de la plus grande importance en urologie clinique.

Il nous a paru intéressant de fixer notre attention sur une autre constante physique des solutions organiques assez peu étudiée jusqu'ici, et qui a trait à leur tension superficielle. Comme la tension osmotique, la tension superficielle, dit Imbert[1], « est une « constante physique spécifique des corps chez les- « quels il y a lieu de les considérer, au même titre « que la densité par exemple; on peut l'utiliser « comme cette dernière et comme d'autres cons- « tantes spécifiques pour l'analyse qualitative.

« D'après Eötwös, Ramsay, Schields, il serait pos- « sible de déduire de la tension superficielle des « liquides, leur poids moléculaire et même leur tem- « pérature critique. »

(1) D'Arsonval, Gariel, Chauveau, Marey, Weiss. *Traité de physique biologique*, t. I, p. 434, 1901.

Comme pour la tension osmotique, nous possédons des méthodes pratiques, exactes, d'évaluation de la tension de surface. On connaît d'autre part les variations qu'exerce sur elle la nature des molécules dissoutes. Cependant, cette étude n'a point été entreprise d'une façon systématique en médecine. Serait-ce que ce phénomène ne paraît pas avoir *à priori* en biologie une importance considérable?

Nous n'avons certes pas la prétention d'aborder cette question à un point de vue aussi général, notre but est beaucoup plus modeste.

Nous inspirant des recherches de MM. Duclaux, Plateau, Sentis, etc., sur la tension superficielle des solutions minérales et organiques, nous nous limiterons à l'étude de la tension de surface des urines qui renferment des éléments anormaux (sels biliaires). Dans ces derniers temps, cette étude a été le point de départ de plusieurs travaux très intéressants et pour la plupart d'entre eux ils se rapportent à la réaction de Hay[1].

Cette réaction, que nous décrivons plus loin, caractérise dans l'urine la présence de la bile par l'abaissement de la tension superficielle, comme l'ont très bien démontré récemment MM. Frenkel et Cluzet, qui ont eu le mérite de fournir l'explication physique

(1) La réaction de Hay pour la recherche des acides biliaires. Rectification faite par M. Frenkel de Toulouse (Société de biologie, 21 mars 1902).

de cette réaction et aussi de la vulgariser. Depuis la première communication de M. Frenkel sur la valeur pratique de ce procédé, nombre d'autres travaux ont paru sur la même question démontrant ainsi tout l'intérêt qui s'y rattache.

De leur côté, MM. Billard et Dieulafé, en se plaçant au point de vue de la tension superficielle et de la viscosité des urines contenant des sels biliaires, ont étudié les propriétés émulsives de ce liquide lorsqu'on le mélange à du chloroforme. Ils ont parfaitement observé que les variations de ce pouvoir émulsif selon la teneur des urines en sels biliaires, constitue une autre méthode de recherche.

Nous nous sommes surtout attaché à l'étude de ce nouveau procédé qui constitue, comme la réaction de Hay, un excellent moyen propre à caractériser la présence des sels biliaires dans l'urine.

Il nous a paru néanmoins utile de passer en revue les principales méthodes de recherche soit des pigments, soit des sels biliaires. Mais pour la plupart d'entre elles, sauf pour les méthodes physiques, nous nous bornerons à une simple description.

Notre étude est divisée en deux chapitres : dans une première partie, nous énumèrerons et nous décrirons les méthodes chimiques; dans la deuxième, nous étudierons les procédés physiques.

CHAPITRE PREMIER

Méthodes chimiques

A. — RECHERCHE DES PIGMENTS BILIAIRES

« La bile est colorée par les pigments biliaires. La « matière colorante est un élément principal de la « bile, mais elle n'est point caractéristique de ce « liquide à l'égard des sels biliaires qui ne se rencon- « trent dans aucun autre tissu ou aucune autre « humeur. Le pigment biliaire ou ses dérivés pro- « chains peuvent se rencontrer dans le sang, dans « l'urine, et en certaines circonstances dans quelques « tissus.

« Il y a deux matières colorantes principales dans « la bile fraîche à savoir : *la bilirubine* et *la biliver-* « *dine,* cette dernière résultant de l'oxydation de la « première par l'oxygène atmosphérique (Maly).

« La bilirubine correspond à la formule $C^{32}H^{36}Az^4O^6$. « La biliverdine en dérive par oxydation ; elle a pour « formule : $C^{32}H^{36}Az^4O^8 = C^{32}H^{36}Az^4O^6 + O^2$ (Dastre).

1. **Procédé de Gmelin**. — Les pigments biliaires fournissent, lorsqu'on les traite par les agents d'oxydation, une succession de colorations vives et variées. Certaines de ces colorations, le *violet* et le *vert*, sont caractéristiques de la présence des pigments biliaires, et c'est là-dessus qu'est basée la réaction de *Gmelin* qui sert à les déceler.

On peut essayer cette réaction suivant plusieurs modifications indiquées par des auteurs différents : *a*) sur l'urine même (Gmelin); *b*) sur le papier filtré imprégné d'urine (Rosenbach); *c*) sur la bilirubine extraite de l'urine (Salkowski).

a). **Sur l'urine même** (Gmelin). — Dans un verre à réaction, on verse une certaine quantité d'urine bien limpide, 20 c.c. environ, puis on fait arriver au fond du verre, à l'aide d'une pipette très effilée, une dizaine de centimètres cubes d'acide azotique nitreux. On opère avec précaution pour que les liquides ne se mélangent pas. Si l'urine renferme des pigments biliaires, il se forme à la surface de séparation une gamme de couches colorées qui se superposent de la façon suivante en allant de haut en bas : Vert, bleu, violet, rouge et jaune orangé.

b). **Sur papier imprégné d'urine** (Rosenbach). — On prend un morceau de papier ayant servi à la filtration de l'urine, on l'étale sur du papier à filtre sec et on y laisse tomber une ou deux gouttes d'acide azotique nitreux. Il est indispensable, pour conclure à

la présence de la bile, de voir se produire au moins le vert et le violet.

c). **Sur les pigments extraits de l'urine** (Salkowski). — En appliquant la réaction de Gmelin aux pigments extraits de l'urine, on écarte toute cause d'erreur (indican), et de plus la sensibilité de la réaction est augmentée. C'est ce que réalise le procédé de Salkowski, dont les phases sont les suivantes :

On ajoute à l'urine, pour l'alcaliniser, quelques gouttes de solution saturée de carbonate de soude ; les pigments biliaires passent à l'état de bilirubinates et surtout de biliverdinates alcalins. Ceux-ci sont transformés, à l'aide d'une solution de chlorure de calcium au dixième que l'on ajoute goutte à goutte, en sels de chaux insolubles.

On les sépare par filtration, on les lave et on les délaye dans l'alcool qui ne les dissout pas. Par addition d'acide chlorhydrique, il se forme du chlorure de calcium, et la biliverdine mise en liberté se dissout dans l'alcool. La solution, qui était incolore à froid, présente, si on la chauffe, une coloration variant du vert au bleu, lorsqu'elle contient des pigments biliaires ; dans le cas contraire, on n'obtient aucune coloration,

On ajoute, après refroidissement, de l'acide azotique nitreux et on obtient la réaction de Gmelin.

De ces trois procédés, le dernier constitue le plus sensible (Dastre).

2. **Procédé de Jolles**[1]. — Ce procédé constitue un autre perfectionnement de la réaction de Gmelin.

Pour opérer, on mélange à une quantité déterminée d'urine de l'acide chlorhydrique dilué au dixième, du chlorure de baryum en excès et du chloroforme ; on agite et on laisse reposer dix minutes. On fait écouler et on décante à l'aide d'une pipette le chloroforme et le dépôt ; on fait évaporer le chloroforme au bain-marie, le dépôt va au fond du récipient, et on décante le liquide qui surnage. Si l'on fait arriver trois ou quatre gouttes d'acide azotique nitreux sur les parois du verre qui contient le liquide, on voit se former les couleurs caractéristiques des pigments biliaires.

D'après Jolles, ce procédé l'emporterait sur tous les autres, car il permettrait de percevoir les colorations caractéristiques des pigments biliaires dans des urines n'en renfermant que 0 gr. 10 p. 100.

La réaction de Jolles, très sensible, n'est malheureusement pas toujours facile à exécuter à cause de la forte couche d'écume qui se forme, surtout s'il y a présence d'albumine et de substance colorante du sang (Hammarsten).

3. **Procédé de Hédénius**. — Le procédé de Hédénius, qui permet de rechercher les pigments biliaires dans les liquides et aussi dans le sang, est basé sur

(1) *Répertoire de Pharmacie*, 10 mars 1894, p. 121.

une coloration bleu-verdâtre que prend la liqueur traitée de la façon suivante : on mélange dix à quinze centimètres cubes d'alcool à cinq centimètres cubes du liquide à examiner. Il se forme un précipité que l'on dissout par de l'acide chlorhydrique à (10 p. 100, 25 p. 100), ajouté goutte à goutte. On porte à l'ébullition à deux reprises, et on obtient dans un temps plus ou moins long une coloration bleu-verdâtre. Ceci pour un liquide pauvre en albumine ; si au contraire le liquide est riche en albumine, la quantité d'alcool destinée à produire le précipité est augmentée (vingt centimètres cubes d'alcool pour cinq centimètres cubes du liquide), on agite, on filtre et on ajoute quatre à cinq gouttes d'acide chlorhydrique. On obtient, en portant à l'ébullition, une belle coloration bleu-verdâtre.

Le procédé de Hédénius n'est en somme qu'une variante de celui de Salkowski.

On peut encore utiliser la propriété de la biliverdine de se dissoudre dans l'acide acétique glacial et dans le chloroforme.

Dans ce cas, il suffit d'acidifier une petite quantité d'urine avec de l'acide acétique. On l'agite ensuite avec du chloroforme. La liqueur se colore en jaune.

4. **Procédé de Hammarsten**[1]. — Le réactif de Hammarsten se prépare en mélangeant des solutions

(1) Hammarsten. Lehrbuch der physiologischen Chemie, p. 237, 507.

à 25 p. 100 d'acide nitrique et d'acide chlorhydrique dans les proportions de un volume du premier pour dix-neuf volumes du second. Lorsque ce mélange d'acides, qui peut être conservé au moins un an, est devenu jaunâtre par le repos, on le mélange avec de l'alcool dans les proportions de un volume pour quatre volumes d'alcool.

Si on ajoute à quelques centimètres cubes de cette solution acide incolore quelques gouttes d'une solution de bilirubine, elle prend aussitôt une belle couleur verte qui est durable. En ajoutant des proportions croissantes du réactif à ce liquide vert, on peut très facilement obtenir l'une après l'autre et à des intervalles voulus, toutes les colorations obtenues par la réaction de Gmelin.

Pour la recherche des pigments biliaires dans les urines, il suffit d'ajouter à 2 ou 3 cent. cubes du réactif quelques gouttes de l'urine. Par agitation, le mélange prend presque aussitôt une coloration d'un beau vert ou vert-bleu qui dure pendant plusieurs jours. S'il existe de très faibles quantités de pigments biliaires et particulièrement s'il existe en même temps de l'hémoglobine ou d'autres substances colorantes, on verse 10 c.c. environ de l'urine qui doit être acide ou presque neutre, mais *pas alcaline*, dans le tube d'un centrifugeur, on ajoute quelques gouttes de chlorure de baryum et on centrifuge une minute environ. On sépare le liquide et on mélange le dépôt à un centimètre cube de réactif de Hammarsten en

agitant et on centrifuge. On obtient une solution d'un beau vert que l'on peut, en ajoutant des proportions croissantes du réactif, faire passer par le bleu, violet, rouge et rouge jaune.

On obtient encore la couleur verte s'il y a une partie de pigments biliaires pour 500,000 ou 1,000,000 de parties d'urines. S'il existe des proportions notables d'autres substances, il vaut mieux employer le chlorure de calcium que le chlorure de baryum.

5. **Procédé de Huppert**[1]. — Si on mélange à une solution de bilirubine un lait de chaux ou du chlorure de calcium et de l'ammoniaque, il se produit un précipité de bilirubinate de chaux qui se dépose. Si, après l'avoir lavé à l'eau, on met ce dépôt encore humide dans un petit verre à réaction, et si on remplit à moitié ce verre d'alcool acidulé à l'acide chlorhydrique, et qu'on chauffe suffisamment jusqu'à ébullition, le liquide prend une coloration vert émeraude ou vert bleu.

Réaction de Huppert avec une urine riche en indican[2]. On n'obtient pas toujours alors de bons résultats avec la réaction de Gmelin. Dans ces cas-là, ou encore quand l'urine contient en même temps de l'hémoglobine, on ajoute à l'urine de l'eau de chaux ou, d'abord, quelques gouttes d'une solution de

(1) Hammarsten, *loc. cit.*, p. 237.
(2) Hammarsten, *loc. cit.*, p. 507.

chlorure de calcium, puis d'une solution de soude ou de carbonate d'ammoniaque. Le dépôt précipité qui contient la substance colorante de la bile, est lavé sur un filtre, puis dissous dans l'alcool contenant 5 cc. pour 100 cc. d'acide chlorhydrique concentré. On chauffe jusqu'à ébullition ; la solution se colore alors en vert ou vert bleu. La sensibilité de cette réaction est égale à celle de Hammarsten.

6. **Procédé d'Ultzmann**. — Pour opérer cette réaction, on mélange 10 cc. d'urine avec 3 à 4 cc., de solution concentrée de potasse caustique, on acidule à l'acide chlorhydrique. L'urine prend une belle coloration verte.

7. **Procédé de Smith**. — On verse avec précaution de la teinture d'iode sur l'urine. Au point de contact, il se produit un cercle d'un beau vert. On peut aussi mélanger et agiter jusqu'à ce que l'urine prenne une belle couleur verte.

8. **Procédé d'Erlich**. — Pour cette expérience, on mélange d'abord l'urine à volume égal avec de l'acide acétique délayé, puis on ajoute goutte à goutte une solution de sulfodiazo-benzol. Le mélange d'urine renfermant de la bilirubine, prend en présence de ce réactif une coloration rouge sombre, qui passe au violet-bleu, si on ajoute de l'acide acétique cristallisable. La solution de sulfodiazo-benzol se prépare au moyen de

un gramme d'acide sulfanilique, 15 centimètres cubes d'acide chlorhydrique et 10 centigrammes de nitrite de sodium. On délaie avec de l'eau pour obtenir un litre de solution.

Les substances colorantes provenant de médicaments (santonine, rhéum, sené) peuvent donner à l'urine une coloration anormale qui pourrait provoquer une confusion avec les matières colorantes de la bile, ou peut-être, dans l'urine alcaline, avec les substances colorantes du sang. Si on ajoute à une urine de ce genre de l'acide chlorhydrique, elle devient jaune ou jaune pâle, tandis qu'inversement, en ajoutant de l'alcali en excès, elle devient rouge, d'un rouge plus ou moins vif.

9. **Procédé de Maréchal et Rosin.** — Maréchal et Rosin ont indiqué un procédé basé sur la propriété que possède la teinture d'iode de donner avec les urines ictériques une belle coloration verte. On fait arriver lentement, le long de la paroi d'un tube à essai contenant l'urine à examiner, trois ou quatre centimètres cubes de teinture d'iode. La coloration verte qui se produit, si l'urine renferme des pigments biliaires, peut persister pendant quelques heures.

10. **Procédé de C. Paul.** — Si on ajoute à une urine contenant des pigments biliaires une solution de violet de méthylamine, à 1/500, l'urine prend une teinte rouge.

B. — RECHERCHE DES ACIDES ET SELS BILIAIRES

« Les sels biliaires constituent l'élément caracté-
« ristique de la bile. Ils lui sont exclusifs, alors que
« les autres composants peuvent se rencontrer *en plus*
« *ou moins* grande quantité dans le sang et les tissus.
« Dans la bile de l'homme, on trouve les deux sels :
« le *glycocholate* et le *taurocholate de sodium*, le pre-
« mier trois fois plus abondant » (Dastre).

Les acides biliaires et leurs dérivés présentent une réaction qui s'applique à leur noyau commun, l'acide cholique ou cholatique, c'est la réaction de Pettenkofer.

1. **Réaction de Pettenkofer.** — Cette réaction est caractérisée par une coloration pourpre, que les acides biliaires communiquent au liquide qui les renferme, lorsque ce dernier est mis au contact simultané de l'acide sulfurique et d'une solution de sucre de canne. La température convenable, pour obtenir la réaction, est de 60 degrés ; généralement, le mélange de l'acide sulfurique avec l'urine suffit pour la produire. Tou tefois, il convient de chauffer légèrement.

Pour produire la réaction de Pettenkofer, on opère de la façon suivante : on place l'urine ictérique dans un verre à expériences avec quelques gouttes d'une solution au cinquième de sucre de canne; on verse un filet d'acide sulfurique concentré et on mélange avec

un agitateur en verre. On observe alors une coloration violette qui passe au pourpre.

Si, à l'aide d'une pipette, on fait arriver très doucement l'acide sulfurique à la surface du mélange d'urine ictérique et de sucre, on observe la coloration violette que l'on fait passer ensuite au pourpre, en agitant lentement.

Au cas où la chaleur dégagée ne serait pas suffisante par la simple addition de l'acide sulfurique, ce qui est très rare, il faudrait chauffer avec précaution. Si on dépasse la température convenable, le sucre est carbonisé par l'acide sulfurique, et le mélange se colore en noir.

La modification de Mylius consiste à remplacer le sucre par une goutte de solution de furfurol au millième.

La présence de l'albumine entrave la réaction de Pettenkofer, il faut donc débarrasser l'urine ictérique de cette substance, si elle en renferme.

Lorsque la quantité d'acides biliaires contenue dans l'urine est tellement minime que l'on n'obtient pas la réaction de Pettenkofer directement, on opère de la façon suivante :

On reprend par l'alcool à 85° le résidu obtenu en évaporant à siccité trois ou quatre cents grammes d'urine, on évapore et on reprend le résidu alcoolique par de l'alcool absolu qui ne dissout pas les sels.

On évapore la nouvelle solution alcoolique.

On fait une solution aqueuse du résidu obtenu et on la traite par le sous-acétate de plomb.

Il est nécessaire d'ajouter ce dernier très exactement pour éviter un excès.

On décante et on place sur un filtre le précipité formé, on le dessèche et on dissout les cholates et choléates de plomb à l'aide de l'alcool bouillant.

On transforme par l'addition de carbonate de soude les sels biliaires en sels de soude solubles, tandis que le plomb est transformé en carbonate.

On reprend par l'eau distillée le résidu obtenu par évaporation à siccité au bain-marie, et on a une solution de cholates et choléates de soude sur laquelle on opère alors la réaction de Pettenkofer.

2. **Procédé de Frerichs et Stœdeler.** — On épuise par l'alcool le résidu sec de l'urine évaporée, on évapore de nouveau et on reprend par l'alcool absolu. On opère exactement de la même façon que précédemment pour les urines faiblement ictériques, c'est-à-dire que l'on forme des sels biliaires plombiques, puis des sels de soude en solution. Au lieu d'essayer sur cette solution la réaction de Pettenkofer, on évapore la solution, et le résidu est traité par l'alcool absolu. Les acides biliaires sont séparés de cette liqueur en partie amorphes et en partie cristallisés, à l'aide de l'éther.

3. **Procédé de Hoppe-Seyler**. — On traite l'urine par un lait de chaux et on filtre ; on abandonne le

liquide filtré pendant vingt-quatre heures, après l'avoir additionné d'acide chlorhydrique en excès. Il s'est déposé des matières cristallines que l'on sépare par décantation.

On soumet le liquide à l'ébullition une demi-heure avec un excès d'acide chlorhydrique, afin de transformer les acides glyco et taurocholiques en acide choloïdique. Il faut encore évaporer en consistance sirupeuse au bain-marie, reprendre par beaucoup d'eau et filtrer.

On reprend par l'alcool froid le résidu noir qui a été retenu par le filtre, on décolore l'extrait alcoolique à l'aide du charbon animal et on évapore à siccité. L'acide choloïdique est contenu dans le résidu.

4. **Procédé de G. Dragendorff.** — Le résidu de 1.500 grammes d'urines évaporées à siccité est traité d'abord par de l'alcool à 85°, puis par de l'alcool absolu. On reprend par l'eau le résidu de l'extrait alcoolique et on opère sur cette solution alcoolique comme dans le procédé de Frerichs et Stœdeler. On forme donc du glycocholate de plomb, puis du glycocholate de soude. On évapore le liquide qui a été précipité par le sel de plomb ; le résidu de l'évaporation dissous dans l'eau, puis agité avec du chloroforme, donne franchement la réaction de Pettenkofer.

CHAPITRE II

Méthodes physiques

ARTICLE PREMIER

Méthode spectroscopique

La méthode spectroscopique a surtout été utilisée pour caractériser dans l'urine ou dans la bile un dérivé spécial des pigments biliaires : l'urobiline.

On sait qu'à l'état naturel l'urobiline a été trouvée dans la bile de l'homme, du porc, du bœuf, du mouton (Mac Munn). Elle a été identifiée à l'urobiline vraie du pigment urinaire et à la stercobiline ou pigment des fèces.

L'urobiline provient soit des pigments biliaires (bilirubine, biliverdine), soit du pigment sanguin (hémoglobine).

Son spectre est caractérisé par une bande d'absorption aux limites du vert et du bleu, entre les lignes *b* et *F*. Mais la bande est plus nette si l'on ajoute une goutte d'acide chlorydrique. En plus, on constate une bande accessoire étroite près de *d*.

Létienne dit, dans sa thèse, que sur 44 biles examinées, il a trouvé le spectre de l'urobiline deux fois seulement.

Il a fait une classification des spectres, suivant leur nombre de bandes d'absorption ; il a trouvé, sur les 44 biles examinées, neuf fois des spectres portant des raies d'absorption, et il en a fait trois catégories : spectres à deux, à trois et à quatre bandes.

Il décrit la place occupée par les bandes d'absorption; dans les spectres à deux bandes, on retrouve les bandes d'absorption caractéristiques de l'oxyhémoglobine; dans le spectre à trois bandes, on retrouve, en plus, une bande diffuse occupant dans le vert bleu, le siège donné par Hayem, Winter, Tissier, comme caractéristique de l'urobiline.

Au sujet de la spectroscopie, je dois signaler l'uropigmentomètre spectroscopique de Gautrelet, destiné à doser l'urobiline. Vieillard, dans son Traité sur l'urine humaine, condamne formellement cet appareil. Il est possible à l'aide de la spectroscopie de voir si une urine renferme oui ou non de l'urobiline, et c'est dans ce but que Yvon avait, antérieurement à Gautrelet, fait construire le spectromètre à épaisseur variable, mais un dosage ne peut pas être fait.

Somme toute, l'examen spectroscopique de l'urine, en ce qui concerne la recherche des pigments biliaires, est moins précis que les procédés chimiques.

Nous avons jugé utile, néanmoins, de le signaler à propos de la recherche de l'urobiline.

ARTICLE DEUXIÈME

Méthode basée sur la tension superficielle des urines (Réaction de Hay).

La réaction de Hay est basée sur le fait suivant : si l'on jette du soufre en poudre à la surface de l'urine il ne tombe pas; si au contraire l'urine renferme des acides biliaires, il tombe rapidement.

M. Frenkel, puis MM. Frenkel et Cluzet ont utilisé cette réaction dans plusieurs cas d'ictère, et ils ont observé « sa grande sensibilité. » Toutes les variétés de soufre peuvent servir à la rigueur, mais ils donnent la préférence au soufre en fleurs.

Le soufre lavé à l'alcool allant au fond de tous les liquides, il est nécessaire qu'il soit débarrassé de toute trace d'alcool, sans cela la réaction n'aurait aucune valeur. Lorsque l'urine examinée contient de la bile, le soufre tombe très vite au fond sous forme de longues traînées; si elle n'en contient pas, il y a tout au plus quelques parcelles qui tombent, mais très lentement. Diverses poudres essayées comme le talc, l'amidon, le tannin, le kaolin, le lycopode sont inutilisables, les unes allant toujours au fond de toutes les urines, les autres ne tombant jamais.

Le tableau suivant montre la sensibilité de la réaction :

Dépôt de soufre en millimètres dans les solutions de bile

DILUTION		Au bout de 1 minute	Au bout de 5 minutes	Au bout de 10 minutes
Au	10e	20mm	Ad libitum	Ad libitum
	100e	20	»	»
	500e	5	15mm	25mm
	1000e	1	2	5
	2000e	0	0	1
	3000e	0	0	1
	4000e	0	0	1
	5000e	0	0	0
	10000e	0	0	0
	50000e	0	0	0
	100000e	0	0	0

« Mais il suffit d'agiter légèrement le verre à expérience pour obtenir un dépôt même avec la solution au 100000e. Il est vrai que dans l'eau distillée elle-même, on peut obtenir un dépôt en agitant le verre, mais ce dépôt est peu intense et très lent à se produire. En tout cas, il est préférable de ne pas agiter le liquide, si l'on veut avoir toute certitude que la formation du dépôt est due à la présence de la bile dans le liquide et non à l'action mécanique de l'agitation » (Frenkel et Cluzet).

Valeur séméiologique de la réaction de Hay pour la recherche de la bile dans l'urine. — Nous avons constaté des centaines de fois que

l'urine normale ne laisse pas tomber le soufre, et que toute urine ictérique donne la réaction de Hay. Il y a cependant quelques exceptions. C'est ainsi que parfois les urines hématuriques ont donné cette réaction, mais c'est là plutôt un fait isolé. En effet, ni le sang ni plusieurs urines hématuriques que nous avons examinées n'ont laissé tomber le soufre.

Le tableau suivant résume la valeur séméiologique de la réaction de Hay :

NUMÉRO du lit.	Age (ans)	DIAGNOSTIC	DÉPOT EN MILLIMÈTRES au bout de :			
			1 min.	5 min.	10 min.	15 min.
Ch. pavante	20	Ictère catarrhal	5	10	15	18
16	54	Ictère léger chronique	1	2	4	6
22	41	Ictère intense chron.	5	14	25	28

De l'étude clinique de la réaction de Hay, les auteurs tirent les conclusions suivantes :

1° La réaction de Hay ou procédé du soufre pour déceler les acides biliaires est un moyen extrêmement simple pour reconnaître la présence de la bile dans l'urine et dans quelques liquides organiques.

2° Cette réaction est très sensible et sous ce rapport elle peut être comparée aux meilleurs procédés connus pour reconnaître les acides biliaires (procédé de Pettenkofer, modification de Strassburg, etc.). Mais elle n'est pas aussi caractéristique que ces procédés,

elle n'est nullement pathognomonique, c'est simplement une réaction d'orientation.

3° En effet, quand le soufre a donné une réponse positive, il s'agit d'interpréter cette réponse.

Il faut d'abord exclure l'existence dans le liquide examiné d'une des nombreuses substances qui précipitent également le soufre, telles que l'acide acétique, l'alcool, l'éther, le chloroforme, l'essence de térébenthine, la benzine et ses dérivés, le phénol et ses dérivés, l'aniline, les savons.

4° Appliqué à l'urine, le procédé de Hay se montre d'une grande utilité, précisément parce que les substances que nous venons d'énumérer s'y rencontrent tout à fait exceptionnellement, et, par conséquent, simulent très rarement la présence des acides biliaires.

D'autre part, il existe des cas d'urines notoirement ictériques dans lesquelles la réaction de Gmelin est négative ou douteuse, la réaction de Pettenkofer ou de Strassburg reste également indécise et où le soufre donne une réponse positive.

5° Appliqué au contenu stomacal, aux vomissements ou aux selles, ce procédé ne fournir que rarement de bons résultats, parce qu'on trouve dans ces liquides très souvent soit de l'acide acétique ou de l'alcool (liquide gastrique), soit des phénols et leurs dérivés (liquides intestinaux, selles) qui donnent une réaction également positive avec le soufre.

6° L'explication de la réaction de Hay est donnée

par des différences de tension superficielle : suivant que le liquide considéré a une tension superficielle plus grande ou plus petite que 50 dynes environ par centimètre, la fleur de soufre reste à la surface ou tombe au fond du liquide; quand la tension est voisine de 50 dynes, la réaction est douteuse;

7° La poudre de lycopode permet de caractériser les tensions superficielles des liquides voisines de 30 dynes par centimètre, comme le soufre en fleurs permet de caractériser les tensions des liquides voisines de 50 dynes par centimètre; et il est probable que l'on pourrait avec d'autres poudres caractériser, par des phénomènes analogues à la réaction de Hay, un certain nombre d'autres valeurs de la tension superficielle.

ARTICLE TROISIÈME

Méthode basée sur la tension superficielle et la viscosité des urines

Avant de décrire le procédé qui nous permettra la recherche des sels biliaires dans l'urine, nous devons donner un certain développement à l'étude de la tension superficielle et de la viscosité des urines ainsi qu'aux modifications que subissent ces propriétés, lorsque les urines contiennent de la bile.

1° Abaissement de la tension superficielle par les sels biliaires.

Dans sa communication à la Société de biologie, du 28 octobre 1901, M. Meillère estime que les procédés basés sur la mesure de la tension superficielle des urines ne sauraient avoir une valeur diagnostique absolue en ce qui concerne les produits biliaires. On admet aujourd'hui sans conteste que la tension superficielle des liquides organiques est abaissée par la présence des sels biliaires ; or, ces liquides organiques eux-mêmes ont une tension superficielle très faible. Parmi ces liquides, celui qui offre le plus grand intérêt au point de vue de la recherche des sels biliaires, l'urine, a une tension superficielle qui « diminue rapidement quand la concentration augmente » (Meillère).

La quantité de sels biliaires qui se trouve dans les urines pathologiques est habituellement très faible, par suite l'abaissement de tension qu'ils sont capables de produire ne saurait, dans tous les cas, lui être imputé d'une façon certaine.

D'après MM. Frenkel et Cluzet, les urines donneraient la réaction de Hay chaque fois que la tension s'abaisse au-dessous de 50 dynes par centimètre carré. Langlois et de Varigny signalent, dans leur Traité de physiologie, que cette réaction est sensible chaque fois que les sels biliaires atteignent les pro-

portions de $\frac{1}{5.000}$ à $\frac{1}{10.000}$. Il suffit, disent MM. Frenkel et Cluzet, d'agiter légèrement le verre à expérience pour obtenir un dépôt, même avec une solution de bile à $\frac{1}{100.000}$. Or l'abaissement de tension superficielle produit par la bile dans ces proportions n'atteint certainement pas 50 dynes, limite supérieure fixée par ces mêmes auteurs. Il est vrai, ajoutent-ils, que, « dans l'eau distillée elle-même on peut obtenir un dépôt en agitant le verre, mais ce dépôt est peu intense et très lent à se produire ». De plus, ils ont pu obtenir la réaction de Hay avec des urines ne contenant pas de sels biliaires. Nous avons nous-même obtenu la réaction de Hay, assez évidente, avec une urine dont la tension superficielle était très élevée et dans laquelle les sels biliaires n'étaient caractérisés par aucun autre procédé.

Il résulte de ces faits que la réaction de Hay ne saurait être absolument affirmative; cependant, nous avons la conviction que dans la plupart des cas, ce nouvel élément de diagnostic peut donner une certitude.

On doit supposer dans toutes les recherches sur la modification de tension superficielle, qu'aucun facteur étranger aux principes qui sont dans les urines n'est intervenu pour produire un abaissement. Un très grand nombre de substances, en effet, sont capables de produire cet abaissement et, pour la plupart d'entre elles, on ne peut trouver d'autre analogie que cette propriété physique.

D'après le mémoire de G. Van der Mensbrugghe, elles ont été classées de la façon suivante :

1° *Liquides volatils plus ou moins solubles dans l'eau :* Ex. : Ether, alcool, chloroforme, essences, etc.

2° *Liquides non volatils*
- *solubles dans l'eau :* Ex. : Eau de savon, sels biliaires, glycérine.
- *insolubles mais susceptibles d'adhérences avec l'eau :* Ex. : Huiles.

3° *Solides*.....
- *solubles dans l'eau :* Ex. : Savon dur.
- *d'où se détachent une matière plus ou moins soluble :* Ex. : Camphre, thymol.

Dans l'examen de ce tableau, nous trouvons les sels biliaires à côté des savons. Aussi, dans la recherches des sels biliaires dans les urines basée sur les mesures de la tension superficielle, faut-il s'assurer au préalable qu'aucune de ces substances ne peut entrer en ligne de compte dans la diminution de la tension de surface.

Disons une fois pour toutes que les verres et appareils utilisés doivent être d'une propreté des plus rigoureuses. Il faut éviter les corps gras, l'enduit sébacé des doigts, etc., laver les instruments à l'alcool et l'éther, puis laisser évaporer. On ne doit pas oublier non plus que les liquides volatils

émettent des vapeurs qui, même à d'assez grandes distances, peuvent influer sur la tension des liquides étudiés.

Duclaux signale, en effet, que le voisinage d'une nappe d'alcool influe grandement sur le nombre des gouttes d'eau distillée qui s'écoulent par une pipette compte-gouttes.

Il est de plus indispensable d'opérer à des températures toujours égales (habituellement aux environs de 15°, température des laboratoires). En effet, lorsque la température s'élève, la tension s'abaisse : ainsi un fragment de camphre tourne sur l'eau pure à 15°; si l'on chauffe cette eau, bientôt le camphre ne tourne plus. Il suffit de refroidir le liquide pour voir de nouveau le camphre entrer en mouvement.

De cet ensemble de faits, il nous paraît nettement résulter que la mesure de l'abaissement de tension superficielle, n'étant pas le propre de la présence des sels biliaires, est insuffisante à les caractériser.

Et d'ailleurs, dans l'urine normale, se trouvent des substances qui ont pour effet d'abaisser la tension superficielle. Ces substances ne sauraient être des sels minéraux puisque ceux-ci ont pour effet d'élever la tension superficielle de l'eau. Tous les liquides organiques ont une tension superficielle très faible, ainsi qu'il résulte des recherches de MM. Bardier et Cluzet.

C'est donc à des substances organiques, et à elles seules, qu'est imputable l'abaissement de tension

superficielle; par suite, si la proportion de ces substances augmente, la tension doit s'abaisser, et c'est ce que l'on observe dans les urines très concentrées.

Nous avons vu que les sels biliaires étaient placés à côté des savons ; par suite, la plus grande cause d'erreur qui puisse exister pour le diagnostic des sels biliaires dans les urines, c'est la présence des savons.

Comme ces derniers, ils ont une tension superficielle très faible, plus faible même d'après les résultats de MM. Billard et Dieulafé.

TABLEAU I. — **Solutions de Savons et de Sels biliaires :**

	Tension superficielle	Temps d'écoulement
Eau	7.5	80"
Eau de savon saturée	3.24	75"
Eau de savon ..... 1cc + Eau 50cc	6. »	74"
Eau de savon ..... 1cc + Eau 100cc	6.45	77"
Eau de savon ..... 1cc + Eau 500cc	7.35	79"
Solution saturée d'acide taurocholique	4.35	77"
Solution ..... 1cc + Eau 50cc	4.80	74"
Solution ..... 1cc + Eau 100cc	5.55	78"
Solution ..... 1cc + Eau 500cc	7.20	80"

La saturation a été faite à froid à 15° et le contact a été de 24 heures.

Les tensions et les temps d'écoulement ont été mesurés au moyen d'une pipette compte-gouttes de Duclaux et d'un densimètre pèse-urines.

Guye et Perrot, dans une longue étude critique sur l'emploi du compte-gouttes pour la détermination de la tension superficielle, concluent que ce procédé donne une précision suffisante. « Des diverses mé-
« thodes que l'on peut employer pour déterminer des
« tensions superficielles par le poids des gouttes,
« celle qui nous paraît donner les meilleurs résultats
« consiste à laisser les gouttes se former librement à
« l'orifice capillaire d'une pipette contenant le liquide
« à étudier et préalablement calibrée avec un liquide
« type, de tension superficielle connue. A la condi-
« tion d'introduire deux corrections dont le détail
« est donné dans notre série de recherches, l'une
« dépendant du nombre de gouttes, l'autre de leur
« durée de formation, on peut obtenir les valeurs des
« tensions superficielles exactes à 1 ou 2 p. 100
« près. »

On voit, dans le tableau qui précède, que la viscosité des savons est plus faible que celle des sels biliaires, et nous allons voir par la suite quels avantages on peut retirer de la comparaison de ces deux facteurs physiques. Cependant, avant de pousser plus loin l'étude comparée de ces deux propriétés physiques, exposons les expériences qui montrent l'analogie d'action des sels biliaires et des savons en ce qui concerne l'abaissement de tension :

1° Les sels biliaires comme les savons sont solubles dans l'eau ;

2° Les solutions aqueuses des sels biliaires et des

savons présentent au bout d'un certain temps une coloration d'abord jaunâtre, puis blanchâtre, opalescente, et il serait difficile de les distinguer d'après leur aspect.

3° Les solutions de sels biliaires s'étalent à la surface de l'eau comme l'eau de savon.

Nous avons assisté nous-même aux expériences de MM. Billard et Dieulafé, et nous allons en donner la description. Prenons à l'extrémité d'une pipette ou d'un agitateur une gouttelette de solution aqueuse concentrée de bleu de méthylène et déposons-la à la surface d'une nappe d'eau pure, nous verrons alors la goutte plonger dans l'eau, laissant à sa suite une traînée bleue qui, comme une colonne, réunit une toute petite surface d'étalement sur l'eau à une surface un peu plus grande étalée au fond du verre. Nous n'insisterons pas sur les figures variées que peut décrire la goutte qui tombe ; nous retenons seulement qu'elle ne s'étale pas ou très peu à la surface, au point de contact. Mais si nous avons au préalable mélangé à notre solution de bleu quelques gouttes de bile ou d'eau de savon ou de solution aqueuse de sels biliaires, et que nous répétions l'expérience de la même façon, nous verrons, lorsque la gouttelette colorée arrivera au contact de la surface de l'eau pure, qu'elle disparaîtra dans une sorte de tourbillon en coup de vent balayant la surface du liquide. Il semblera par suite que l'eau n'a pas été colorée, mais si l'on répète plusieurs

fois l'expérience et qu'on examine le verre de profil, par transparence, on verra une très mince couche bleue étalée en nappe à la surface.

Nous avons encore vu démontrer ce fait de l'étalement des sels biliaires à la surface de l'eau de la façon suivante :

Lorsqu'on fait tomber d'une certaine hauteur en pluie de la poudre de lycopode à la surface de l'eau, la poudre forme une sorte de pellicule flottante. Si l'on touche le liquide avec une baguette de verre trempée dans l'eau, quelques grains de poudre de lycopode s'attachent à la baguette mais aucune réaction ne se produit ; au contraire, si la baguette a été plongée dans de la bile ou dans une solution de savon ou dans une solution aqueuse de sels biliaires, on voit la poudre de lycopode fuir brusquement d'un seul coup autour du point de contact.

Dans un large cristallisoir, on peut s'apercevoir que le cercle découvert par la fuite de la poudre de lycopode est d'autant plus grand que la tension superficielle du liquide employé est plus faible. Ainsi nous avons vu, d'après le tableau n° 1, que la tension superficielle des solutions de savon est plus faible que celle des sels biliaires, aussi verrons-nous, au contact avec les premieres, la poudre de lycopode fuir beaucoup plus loin qu'avec les secondes.

Voici encore une expérience du même genre qui ne fait que confirmer ces résultats.

Si, après avoir étalé la poudre de lycopode à la surface de l'eau, on y projette quelques petits fragments de camphre, on voit la pellicule de poudre trouée par des sillages que laissent après eux les corpuscules de camphre, animés de mouvements très vifs. En touchant la surface du liquide avec un goutte de bile, de solution de savon ou de sel biliaire, tout fuit encore brusquement autour du point de contact, et le camphre ne tourne plus. Nous avons répété les mêmes expériences et les avons trouvées très probantes, très évidentes avec l'uréthane.

De ces expériences, il résulte nettement que les sels biliaires présentent de grandes analogies avec les savons; cependant, il existe des différences très nettes qui peuvent permettre de les distinguer facilement. Les différences tiennent essentiellement à leur viscosité, et de même qu'ils se rapprochaient par leur tension superficielle, nous les verrons se comporter d'une façon différente au point de vue de leur viscosité.

Dans le tableau n° 1, nous voyons que la viscosité représentée par le temps d'écoulement est beaucoup plus grande pour les savons que pour les sels biliaires, surtout par rapport à la tension, et il est une troisième propriété physique qui apparaît par l'action combinée de la tension superficielle et de la viscosité, c'est la production de la mousse par agitation. D'après le mémoire de Plateau, la faculté pour un liquide de

produire de la mousse par agitation est d'autant plus grande que l'écart qui existe entre sa tension superficielle et sa viscosité est plus marqué.

Il est de connaissance usuelle que l'eau de savon est un liquide qui donne par agitation une mousse très abondante et très persistante. Les solutions de savon réunissent bien, en effet, les conditions signalées plus haut : tension superficielle très faible, viscosité relativement très grande. Nous ne retrouvons pas ces conditions aussi nettement réunies dans les solutions de sels biliaires, aussi ne peut-on obtenir avec ces liquides que très peu de mousse, et encore est-elle très fugitive.

Bien plus, si quelques gouttes de solution de sels biliaires sont projetées sur de la mousse de savon, celle-ci tombe rapidement.

Si l'on essaie de faire des lames liquides avec les solutions de sels biliaires, on observe qu'elles sont difficiles à obtenir et se maintiennent peu de temps.

D'après les travaux de MM. Billard et Dieulafé, les calottes que l'on peut obtenir avec les solutions de sels biliaires ne sauraient être rangées nettement dans aucune des trois catégories de liquides établies par Plateau.

« Les caractères généraux de la première catégorie sont : peu ou point de mousse, impossibilité de gonfler des bulles, courte durée des lames, absence de couleur ou coloration tardive, seulement naissante et n'offrant, quand elle s'étale dans toute la lame, que

le rouge et le vert de derniers ordres. Parmi les nombreux liquides qui se rangent dans cette catégorie on trouve : l'eau, la glycérine, les acides sulfurique et azotique, l'ammoniaque, les solutions saturées d'acide tartrique, d'azotate de potasse, de carbonate de soude et de chlorure de calcium.

Les liquides de la deuxième catégorie, comme les précédents, développent peu de mousse ou n'en développent aucune et ne se laissent pas gonfler en bulles à l'orifice d'une pipe; leurs calottes ont, en général, des durées beaucoup plus courtes encore, mais pour un même liquide, toutes les calottes ou au moins une partie d'entre elles se revêtent, à l'instant de leur formation ou très peu après, de teintes prononcées des différents ordres sur toute leur surface. Ces teintes peuvent se disposer en anneaux horizontaux, et alors pour certains liquides et dans certaines conditions, elles indiquent que l'épaisseur de la lame va en croissant de la base au sommet de la calotte. Ajoutons que par suite du peu de persistance, il faut souvent l'habitude que donne la répétition multipliée de semblables expériences pour bien juger des teintes et de leur arrangement.

Ainsi, d'une manière générale, les liquides en question se distinguent de ceux de la catégorie précédente par une coloration des lames, prompte, prononcée et montrant les teintes de tous les ordres. Les liquides de cette deuxième catégorie sont : les huiles grasses, l'acide lactique, l'acide acétique cris-

tallisable, l'essence de térébenthine, l'alcool, la benzine, la liqueur des Hollandais, le chloroforme, l'éther sulfurique, le sulfure de carbone et sans doute un grand nombre d'autres.

Les liquides qui appartiennent à la troisième catégorie se recouvrent par l'agitation d'une mousse volumineuse et très persistante. On les gonfle aisément en bulles à l'orifice d'une pipe, leurs calottes se maintiennent beaucoup plus longtemps que celles des deux catégories précédentes, ordinairement plusieurs heures, quelquefois même plusieurs jours ; elles ont d'abord, en général, une phase incolore très notable dont la durée diffère beaucoup d'un liquide à un autre, puis se teintent graduellement, mais d'une manière qui varie un peu avec les liquides. Ces liquides sont peu nombreux. Ils se réduisent, je pense, aux solutions des différents savons, à la solution de saponine et à celle d'albumine; on peut y joindre la solution d'acétate de peroxyde de fer. Je ne parle pas de la solution d'oléate de soude parce qu'elle doit se placer avec celles des savons, ni du liquide glycérique dont la propriété de s'étendre aisément en grosses bulles résulte du savon ou de l'oléate de soude qu'il renferme, ni de la décoction de panama, qui contient de la saponine, ni de quelques autres liquides encore dans la composition desquels entre une substance albuminoïde.

Enfin, on le comprend, les trois catégories ci-dessus ne sont pas tellement tranchées qu'il n'y ait cer-

tains liquides formant pour ainsi dire passage de l'une d'elles à une autre ; je citerai comme exemple une solution de dix parties de gomme arabique dans dix parties d'eau qui participe à la fois de la première et de la troisième catégorie, et une solution convenable de colophane dans l'huile d'olive, qui participe de la deuxième et de la troisième.

On peut obtenir des calottes avec des solutions saturées de sels ou d'acides biliaires ; elles ont toujours de très petites dimensions, et sont de courte durée. Pendant presque tout le temps, elles présentent la coloration blanche du premier ordre ; mais, quelques instants avant d'éclater, elles se couvrent sur toute leur surface de rouge et de vert. On voit donc par cette description que nous pouvons rattacher les solutions de sels biliaires aux liquides de la première catégorie. Cependant, on peut arriver à former des bulles qui atteignent jusqu'à quatre centimètres de diamètre, et ce fait, rapproché de ce que les solutions ont une tension superficielle très faible, nous montre qu'il existe aussi des analogies avec les liquides de la troisième catogorie. D'après MM. Billard et Dieulafé, les solutions de sels biliaires seraient des intermédiaires entre la glycérine et l'eau de savon. Si nous avons insisté aussi longuement sur les différences et les analogies qui existent entre les savons et les solutions de sels biliaires, c'est que par suite de cette étude comparée les auteurs que nous venons de citer ont été amenés à étudier les

émulsions de ces solutions dans les liquides organiques (en particulier dans l'urine) avec le chloroforme et l'huile.

2° EMULSION DES URINES NORMALES AVEC LE CHLOROFORME.

Si, dans un tube à essai, on verse 5 c.c. de chloroforme et 10 c.c. d'urine normale et que l'on agite vivement, on observe que le chloroforme, qui ne tarde pas à tomber au fond du tube, est divisé en fines gouttelettes séparées par des lames d'urine qui maintiennent l'émulsion. Toutes les urines normales donneraient cette réaction. Seules les urines très claires, de densité très faible, n'émulsionneraient pas le chloroforme. MM. Billard et Dieulafé ont, en effet, observé chez un nerveux, à la suite d'émotions vives, une urine dont la densité était de 1003 et qui ne donnait pas d'émulsion.

D'après le mémoire de Duclaux, un certain nombre de facteurs entrent en jeu dans la production des émulsions :

1° La tension superficielle; 2° la densité; 3° la viscosité; 4° la faculté de produire de la mousse.

On observe le maximum de stabilité pour les émulsions : 1° lorsque les deux liquides étudiés ont une densité ou une tension superficielle à peu près égale; 2° lorsqu'un des liquides mousse facilement par agitation. Or, la faculté de produire de la mousse

est une propriété dérivant d'un certain rapport entre la tension et la viscosité des couches superficielles.

Dans l'émulsion de l'urine avec du chloroforme, le facteur densité joue un rôle très effacé, puisque la densité du chloroforme est très élevée et ne saurait être comparée à celle des urines même les plus concentrées.

Le facteur tension superficielle doit certainement jouer un rôle, mais à la condition toutefois que son action soit combinée à celle de la viscosité. La tension superficielle du chloroforme est très faible, très éloignée par conséquent de celle des urines. Par suite, il faut nécessairement admettre que c'est à la faculté de produire de la mousse que les urines doivent la propriété d'émulsionner le chloroforme. En effet, plus une urine est mousseuse par agitation et plus la mousse est persistante, plus est fine et durable l'émulsion du chloroforme.

Un inconvénient existerait peut-être à utiliser le chloroforme au lieu de l'huile pour étudier les émulsions des urines, c'est sa légère solubilité dans l'eau, mais en raison du faible degré de cette solubilité, elle n'est jamais devenue une cause d'erreur appréciable. De plus, il vaut mieux utiliser le chloroforme que l'huile, car les tubes à essai sont ensuite beaucoup plus faciles à laver, et de plus nous verrons que lorsqu'une urine contient de la bile, les pigments biliaires se dissolvent dans le

chloroforme et que cette coloration peut être un précieux élément de diagnostic.

3° Modifications de l'émulsion, lorsque l'urine contient de la bile.

Duclaux, dans un chapitre de son mémoire, étudie la bile. Un des premiers faits qu'il signale, c'est que le liquide ne mousse pas par agitation :

« La bile, dit-il, ressemble donc aux dissolutions « gommeuses avec cette différence qu'elle a une « tension superficielle beaucoup plus faible. Elle « émulsionne, en effet, l'huile ; mais au bout de « 24 heures un cinquième de l'huile forme déjà une « masse homogène et le reste est en grosses gouttes « séparées par des lamelles de liquide. » Nous ferons observer ici que la bile de bœuf même filtrée a une viscosité considérable ; d'après Duclaux, elle serait égale à deux par rapport à l'eau. Malgré cette grande viscosité, l'émulsion avec l'huile est instable. Si au lieu de se servir d'huile, on utilise le chloroforme, on observe que l'émulsion est beaucoup plus instable encore, et celui-ci au bout de 24 heures forme une masse homogène dans presque toute sa hauteur.

Si l'on ajoute de la bile à une urine normale, voici les résultats obtenus :

TABLEAU II. — **Dans ces mesures, une goutte représente 1/80 de cent³.**

	DENSITÉ	NOMBRE de gouttes	POIDS d'une goutte	RAPPORT du poids avec l'eau	TEMPS d'écoulement	TENSION superficielle
Urine normale.	1019	112	0,045	0.90	77"	6.75
(1) Urine 20^{c3} + bile 1 goutte.	»	118	0,043	0.86	78"	6.45
(2) Urine 10^{c3} + bile 1 goutte.	»	123	0,041	0.80	78"	6. »
(3) Urine 10^{c3} + bile 2 gouttes	»	127	0,040	0.80	76"	6. »
Urine 10^{c3} + bile 4 gouttes	»	135	0,037	0.74	76"	5.55
Urine 10^{c3} + bile 8 gouttes	»	144	0,035	0.70	75"	5.25
Urine 10^{c3} + bile 16 gouttes	»	150	0,033	0.66	76"	4.95
Urine 10^{c3} + bile 32 gouttes	»	156	0,032	0.64	77"	4 80

Les urines étudiées dans ce tableau donnent, avec la réaction du chloroforme, les résultats suivants :

Urine normale, émulsion stable sur les 5/5 de la hauteur.

»	n° 1	4/5	»
»	n° 2	3/5	»
»	n° 3	2/5	»
»	n° 4	0	»
»	n° 5	0	»
»	n° 6	0	»
»	n° 7	0	»

Inversement, pour la zone de chloroforme homogène au fond du tube.

Comparativement et parallèlement à ces recherches de la bile par le chloroforme, MM. Billard et Dieulafé ont fait la réaction de Hay. Chaque fois que cette

réaction a été positive, l'émulsion chloroformique était très instable, et, dans certains cas, en particulier avec des urines ne contenant que de une à quatre gouttes de bile pour dix centimètres cubes, alors que l'émulsion par le chloroforme était dissociée de façon très sensible, le procédé de Hay restait négatif. C'est surtout dans les cas où la tension superficielle de l'urine est très abaissée que nous voyons la réaction de Hay se manifester avec netteté (se rapporter au tableau).

La bile est un mélange complexe et, parmi les substances qui entrent dans sa composition, notre attention, au point de vue qui nous intéresse, doit spécialement s'arrêter sur celles qui sont capables d'abaisser la tension de surface. On sait que dans la bile il existe des corps gras, mais ceux-ci sont incapables de jouer un rôle assez important dans les observations que nous venons de signaler; d'ailleurs, comme on ne trouve de corps gras dans les urines que dans des circonstances et des maladies particulières (chylurie), nous croyons qu'on n'a pas à faire intervenir leur action dans le cas actuel. Restent les sels biliaires qui, comme nous l'avons vu, ont une grande activité sur les modifications de la tension superficielle, ainsi qu'il résulte des chiffres signalés dans le tableau n° 1.

Nous croyons donc pouvoir conclure des considérations qui précèdent que dans les urines d'ictère, l'abaissement de tension est dû, pour la majeure partie,

aux sels biliaires ; nous disons pour la majeure partie, car les substances organiques qui existent avec eux doivent aussi jouer un rôle. Aussi pensons-nous que le procédé de MM. Billard et Dieulafé où interviennent en même temps deux facteurs : tension superficielle et viscosité, doit avoir quelques avantages sur la réaction de Hay où seule la tension est mise en cause.

Voici les résultats obtenus par ce procédé avec des urines d'ictère.

TABLEAU III. — **Urines d'ictère au déclin.**

	DENSITÉ	NOMBRE de gouttes	POIDS d'une goutte	RAPPORT du poids à l'eau	TENSION superficielle
28 février	1021	131	0,038	0.76	5.50
2 mars	1019	118	0,043	0.86	6.45
3 mars	1025	119	0,045	0.91	6.84

Le procédé des émulsions donne :

	Hauteur de l'émulsion :
N° 1.....	0
N° 2	2/5
N° 3	3/5

L'observation du tube a été faite au bout de 2 heures.

1° APPLICATION AUX URINES ICTÉRIQUES

Ayant plusieurs fois, nous-même, utilisé le procédé de MM. Billard et Dieulafé à la recherche de la bile dans les urines, nous croyons que, par suite de sa simplicité et de la constance des résultats obtenus en même temps que de sa sensibilité, il doit être appliqué aux recherches cliniques. Nous en résumons la technique :

Dans un tube à essai rigoureusement propre, verser 10^{cc} d'urine et 5^{cc} de chloroforme anesthésique. Agitez vivement plusieurs fois, laisser le tube au repos.

I° Observer la mousse qui est peu abondante et tombe très vite, s'il existe des sels biliaires dans cette urine.

II° Constater au bout de quelques heures l'état de l'émulsion qui s'est dissociée partiellement ou en totalité, selon la quantité plus ou moins grande de sels biliaires. De plus, on observe que le chloroforme se colore en jaune dans les urines d'ictère, l'émulsion persistante étant blanche dans les urines normales. Elle est quelquefois rose brique, lorsqu'il existe des uro-phosphates en quantité.

Il est une petite cause d'erreur contre laquelle il faut être prévenu, même avec des urines normales. Lorsque la mousse est tombée, on observe quelques grosses gouttelettes de chloroforme dans le fond du

tube; ces gouttelettes proviennent du chloroforme qui était maintenu à la surface dans les lames de la mousse et qui tombent au fond lorsque celle-ci a disparu. La présence de ces gouttelettes, lorsqu'on est prévenu, ne saurait être une cause d'erreur dans l'interprétation de l'émulsion, car à côté d'elles et tout à fait au fond du tube, le reste du chloroforme est très finement émulsionné.

Nous devons dire aussi que ce procédé n'est nullement applicable aux urines qui contiennent de l'albumine ; dans ce cas, la viscosité est très grande et l'émulsion se maintient stable malgré la présence de la bile.

D'ailleurs, cette propriété qu'ont les urines albumineuses de faciliter l'émulsion a inspiré le travail inaugural de Martin, qui a étudié le pouvoir émulsif des urines par rapport à l'air, pouvoir qu'il a appelé coefficient émulsif. Les variations de ce coefficient dépendent de la teneur de l'urine en matières albuminoïdes et en leurs dérivés voisins que l'on range communément parmi les matières extractives.

(*Voir ci-après le schéma d'une série de tubes*).

Remarque. — Il nous est arrivé, dans certains cas où la tension des urines ictériques était aussi élevée que celle d'urines normales, de voir le procédé des émulsions ne pas donner d'indication bien nette. Il est vrai que, dans ces mêmes cas, la réaction de Hay elle-même restait négative. C'est pour cela que nous indiquons un autre procédé de recherche signalé par MM. Billard et Dieulafé, et qui consiste dans un abaissement de la tension superficielle obtenu par addition de sels minéraux dans les urines ictériques ou les liquides contenant de la bile.

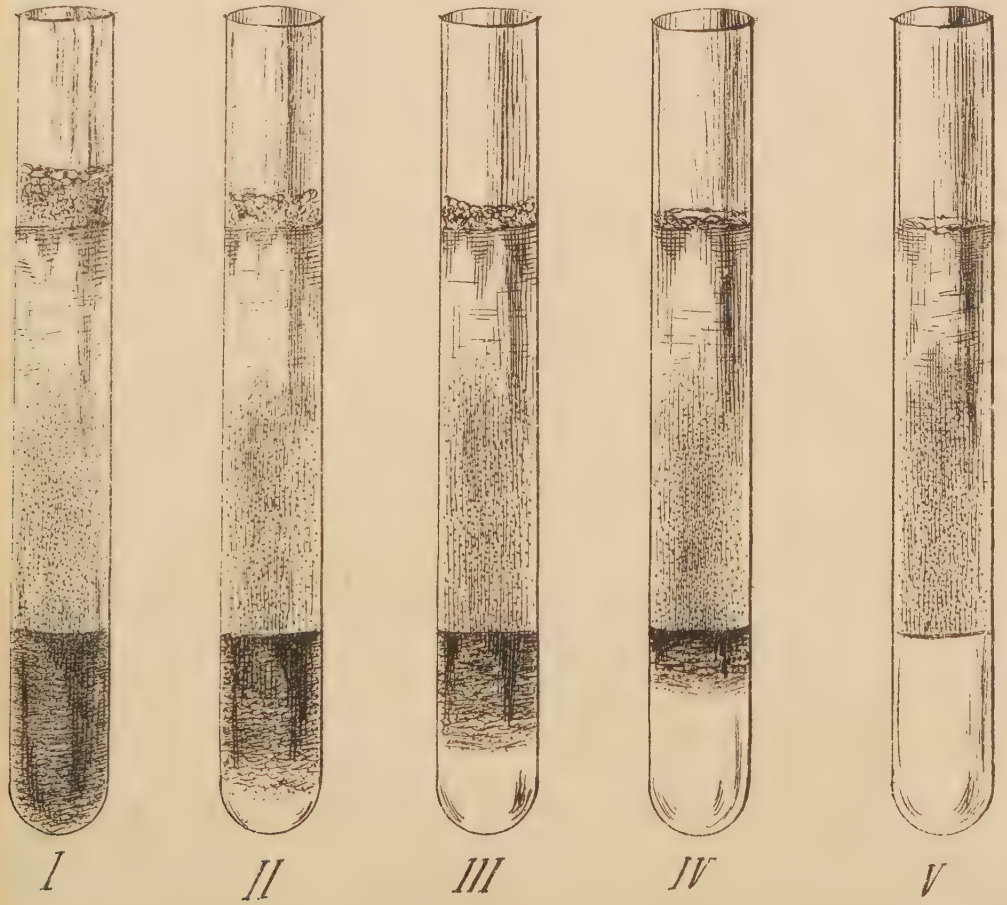
Dans une note sur l'Influence des sels minéraux sur la tension superficielle des urines d'ictère[1], MM. Billard et Dieulafé s'expriment ainsi :

« On sait que la tension superficielle des solutions « aqueuses des sels minéraux augmente avec la « concentration.

« Envisagée au point de vue de la tension l'urine « peut être considérée comme une solution aqueuse « de matières organiques qui abaissent la tension » (Frenkel et Cluzet).

« Il semble donc que l'addition de sels minéraux à « une urine doive toujours produire une élévation de « tension de surfaces. C'est ce qui a lieu, en effet, lors- « qu'on ajoute du chlorure de sodium à une urine

(1) Billard et Dieulafé. Société de Biologie, 14 mars 1902.



Schema d'une série de tubes

N° 1. Urine normale 10^{c3} CHCl^{3} 5^{c3}

N° 2. » » » » bile 1/4 de goutte

N° 3. » » » » 1/2 de goutte.

N° 4. » » » » 1 goutte.

N° 5. » » » » 2 gouttes.

Une goutte $= {}^{1}/_{80^{me}}$ de centim. cube. Le quart et la demi-goutte ont été obtenus par dilution dans l'urine normale.

« normale ; mais chaque fois que nous nous sommes « adressés à des urines d'ictère, nous avons vu la « tension non plus s'élever, mais au contraire s'abais- « ser d'une façon notable.

Urine d'ictère.....		T. S. 5.50
Même urine 50 c.c.+NaCl	1 gramme.	T. S. 5.40
— — — +NaCl	2 grammes	T. S. 5.25

« Nous avons eu des résultats du même ordre en « ajoutant la même quantité (5 gouttes, 1 goutte=1/80e « de c³) de bile successivement à une série de tubes « contenant chacun 10 c.c. de solution de chlorure « de sodium de plus en plus concentrées.

Eau 10cc+bile 5 gouttes.....	D=1000 T.S.=6.00 T.S.	sans bile 7.5
Solution NaCl 10cc+bile 5 gouttes	D=1021 T.S.=5.25 T.S.	— 7.65
— — —	D=1043 T.S.=5.17 T.S.	— 7.81
— — —	D=1087 T.S.=5.085 T.S.	— 8.10
— — —	D=1174 T.S.=6.66 T.S.	— 8.38

« Nous concluons de ces résultats que l'addition de « sels minéraux à l'urine ne produit pas toujours une « élévation de tension de surface. Lorsque les urines « contiennent de la bile, cette addition produit un « abaissement de tension. La suite de nos recherches « montrera que ce fait peut devenir un moyen de « diagnostic des sels biliaires dans les liquides de « l'organisme. »

5° PROCÉDÉ PAR ADDITION DE SELS MINÉRAUX.

D'après des recherches récentes de MM. Billard et Dieulafé [1], l'abaissement de tension superficielle est obtenue indifféremment par addition de l'un quelconque des sels : chlorure de sodium, bromures de sodium et de potassium, iodures de sodium et de potassium, carbonate de soude, sulfate de soude, azotate de soude... et ces auteurs, d'après l'intensité d'action des sels minéraux, les rangent de la façon suivante : Chlorures, bromures, iodures, phosphates, carbonates, nitrates, sulfates (tous sels de sodium).

Quelle est l'action des sels minéraux pour abaisser la tension superficielle à mesure que leur quantité augmente dans l'urine, à l'inverse de ce qui se produit dans une urine normale ou un liquide quelconque?

MM. Billard et Dieulafé, ayant constaté que les acides biliaires sont plus actifs que les sels biliaires dans l'abaissement de la tension superficielle, pensent qu'il doit se produire une action chimique amenant la mise en liberté d'une partie des acides biliaires. Leurs recherches en cours arriveront sans doute à nous fixer définitivement sur ces difficiles mécanismes.

Avec ce procédé, nous avons un moyen infaillible nous permettant de reconnaître la présence des

(1) Société de Biologie, 1902.

sels biliaires. Quoique ce procédé ne soit pas d'une application clinique aussi simple que celui des émulsions ou que la réaction de Hay, pour les cas où existe un doute nous indiquons la technique que l'on devra suivre :

Prendre la tension superficielle de l'urine à examiner. Ajouter à 50 centigr. de cette urine 1 gr. de NaCl (ou toute autre quantité), laisser dissoudre et calculer de nouveau la tension de surface.

Si cette tension est plus basse que dans le premier cas ou égale, c'est que l'urine contient sûrement des sels biliaires.

Calcul de la tension superficielle. — Avec un compte-gouttes donnant 20 gouttes d'eau distillée par centimètre cube, prendre une certaine quantité d'urine : 2, 3 ou 4 centimètres; compter le nombre de gouttes que donne l'écoulement sans pression de cette même quantité d'urine. Peser la quantité d'urine qui vient de s'écouler (balance de précision).

Soit n le nombre de gouttes et P le poids du liquide. $P : n = p$, c'est-à-dire le poids d'une goutte.

Le poids d'une goutte d'eau distillée est $1 : 20 = 0{,}050$.

La tension à chercher se calcule d'après la formule suivante :

$$\frac{p}{x} = \frac{0{,}050}{7{,}5}$$

7,5 est la tension superficielle de l'eau distillée.

$$x = \frac{p \times 7{,}5}{0{,}050}$$

Ce procédé donne un résultat assez approximatif pour que nous puissions le recommander comme moyen de contrôle, dans les cas où le procédé des émulsions donne un résultat douteux.

CONCLUSIONS

1° On peut caractériser la présence des pigments et des sels biliaires dans l'urine à l'aide de procédés chimiques et physiques.

2° Pour la recherche qualitative des pigments biliaires, la réaction de Gmelin constitue encore le procédé de choix.

3° En ce qui concerne les sels biliaires, les réactions chimiques sont moins sensibles que les réactions physiques.

4° Parmi ces dernières, il en existe deux basées sur certaines propriétés physiques des urines.

1° Tension superficielle (procédé de Hay).

2° Tension superficielle et viscosité (procédé de MM. Billard et Dieulafé).

5° Ces deux procédés, à la fois très commodes et particulièrement sensibles, peuvent être également utilisés en urologie clinique.

6° Le procédé de recherche des sels biliaires basé sur l'abaissement de tension obtenu par addi-

tion de sels minéraux, se recommande dans les cas où des causes d'erreur difficiles à déterminer empêchent le procédé des émulsions d'être parfaitement décisif.

Vu : *Le Président de la thèse,*
TOURNEUX.

Vu : *le Doyen,*
CAUBET.

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse, le 21 avril 1902.

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
PERROUD.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

d'Arsonval, Marey, Gariel, Chauveau, Weiss. — *Traité de physique biologique.* (t. I, page 434, 1901.)

Bardier et Cluzet. — Sur la tension superficielle des liquides de l'organisme. (Société de biologie, 15 janvier 1902.)

A.-P. Beddard and M.-S. Pembrey. — Hay's reaction for bile salts. *Britisch medical Journal*, 22 mars 1902, p. 702.

Billard et Dieulafé. — Sur l'abaissement de la tension superficielle des liquides par les sels biliaires et les savons. (Société de biologie, 1902, n° 8, 7 mars, p. 245.)

— Sur l'émulsion du chloroforme par les urines. Procédé de recherche des sels biliaires. (Société de biologie, 1902, n° 9, 14 mars, p. 273.)

— Influence des sels minéraux sur la tension superficielle des urines d'ictère (Société de biologie. 1902, 14 mars).

— Tension superficielle et viscosité de la bile salée. (Société de biologie, 18 avril 1902.)

Dastre. — Art. Bile (Dictionnaire de physiologie, 1896, p. 144, 209).

DUCLAUX. — Sur la tension superficielle des liquides. *Annales de chimie et de physique*, 1870, p. 378.

— Sur la tension superficielle dans la série des alcools et des acides gras. *Annales de chimie et de physique*, 1878, p. 76

FRENKEL. — Société de biologie, 22 décembre 1900, p. 1086. La réaction de Hay pour la recherche des acides biliaires et sa valeur clinique.

— La réaction de Hay pour la recherche des acides biliaires. Rectification faite par M. Frenkel, de Toulouse (Société de biologie, 21 mars 1902).

FRENKEL et CLUZET. — La réaction de Hay pour la recherche des acides biliaires (*Journal de physiologie et de pathologie générale*, 15 janvier 1901).

— Recherches sur la tension superficielle des urines (*Journal de physiologie et de pathologie générale*, 15 mars 1901).

GUYE ET PERROT. — Etude clinique sur l'emploi du compte-gouttes pour la mesure des tensions superficielles. *Archives des Sciences physiques et naturelles de Genève*, série 4, 1901, p. 387.

HAMMARSTEN. — Lehrbuch der physiologischen Chemie.,

HAYEM. — Du sang et de ses altérations anatomiques. Paris, 1889.

HÉDÉNIUS. — Methode zum Nachweiss der Gallenfarbstoffenin ikterischen Flüssigkeiten (*Upsala Läkareforenngseb*, 29, 541).

J. HŒNE. — Sur la présence des acides biliaires dans l'urine physiologique (*Bulletin de thérapeutique*, 86, p. 319, 410, 1874).

A. JOLLES. — Beitrage sur Kenntnis der Gallen und über eine quantitative Methode zür Bestimmung des

Bilirubins in der menschlichen und thierischen Galle. (*Arch. f. d. ges. Physiologie*, LXII, 1, 5, 57).

A. Jolles. — Ueber den Nachweiss von Gallenfarbstoffen in Harne (*Zeitschr. f. physiol., chemie*, 1893, Bd XVIII, 5/6, 5, 545).

A. Létienne. — De la bile à l'état pathologique : étude physique, micrographique et bactériologique (Thèse de la Faculté de médecine, Paris 1891).

Maréchal et Rosin. — Procédé pour déceler des traces minimes du pigment biliaire dans les urines. (*Sem. méd.*, 11 fév. 1893).

Martin. — Le coefficient émulsif et la tension superficielle des urines dans leurs rapports avec les albuminoïdes urinaires (Thèse de la Faculté de médecine, Bordeaux 1901).

Méhu. — Sur la présence des acides biliaires dans l'urine physiologique (*Bulletin de thérapeutique*, 86, 1874, p. 319-410).

Meillère. — Sur la tension superficielle des urines (Société de biologie, 26 octobre 1901, p. 904).

— Recherches des acides biliaires dans les liquides de l'organisme et en particulier dans l'urine (Société de Biologie, 1901, p. 906).

Plateau. — Statistique des liquides soumis aux seules forces moléculaires (Gauthier Villars, 1873, Paris).

— Mémoires de l'Académie royale de Belgique, t. 37.

Salkowski. — Praticum der physiol. und pathol. Chemie 1893.

Van der Mensbrugghe. — Sur la tension superficielle des liquides (Mémoire des savants étrangers de l'Académie royale de Belgique, t. 34, 1870).

Tissier. — Pathologie de la sécrétion biliaire, Paris, 1889.

C. Vieillard. — L'urine humaine, 1897, p. 296.

WINTER. — Recherche de l'urobiline dans la bile (Société de biologie, 1889).

P. YVON. — *Manuel clinique de l'analyse des urines* (1888, p. 233).

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 7

CHAPITRE I. — Méthodes chimiques 13

A. Recherche des pigments biliaires 13

1. Procédé de Gmelin 14

a). Sur l'urine même 14

b). Sur papier imprégné d'urine (Rosenbach) 14

c). Sur les pigments extraits de l'urine (Salkowski). 15

2. Procédé de Jolles 16

3. Procédé de Hédénius 16

4. Procédé de Hammarsten 17

5. Procédé de Huppert 19

6. Procédé d'Ultzmann 20

7. Procédé de Smith 20

8. Procédé d'Erlich 20

9. Procédé de Maréchal et Rosin 21

10. Procédé de C. Paul 21

B. Recherche des acides et des sels biliaires 22

1. Réaction de Pettenkofer 22

2. Procédé de Frerichs et Stædeler 24

3. Procédé de Hoppe-Seyler 24

4. Procédé de Dragendorff 25

CHAPITRE II. — Méthodes physiques 27

Article premier. — Méthode spectroscopique 27

Article deuxième. — Méthode basée sur la tension superficielle des urines. — Réaction de Hay 29

Article troisième. — Méthode basée sur la tension superficielle et la viscosité 33

1° Abaissement de la tension superficielle par les sels biliaires 34

2° Emulsion des urines normales avec le chloroforme 48

3° Modifications de l'émulsion lorsque l'urine contient de la bile 50

4° Application aux urines ictériques 54

5° Procédé par addition de sels minéraux 60

CONCLUSIONS 63

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE 65

Toulouse. Imp. MARQUÉS et Cie, boulevard de Strasbourg, 22.